

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. G. Lasch
Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

**Untersuchungen
zum katabolen Mucopolysaccharidstoffwechsel
von Uterus und Leber der Ratte
nach Gabe von Oestradiol und Testosteron**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Hans Jürgen Glaum
Gießen

Gießen 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545905_0018

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. G. Lasch
Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

**Untersuchungen
zum katabolen Mucopolysaccharidstoffwechsel
von Uterus und Leber der Ratte
nach Gabe von Oestradiol und Testosteron**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Hans Jürgen Glaum
Gießen

Gießen 1970



Dekan: Prof. Dr. E. Habermann

Referent: Priv. -Doz. Dr. Platt

Korreferent: Prof. Dr. Staudinger

GLIEDERUNG

	Seite
1.0.0. Einleitung	1
2.0.0. Untersuchungsmaterial	4
1.0. Gruppeneinteilung und Dosierung	
1. Gabe von Testosteron-Propionat	
2. Gabe von Östradiol-3-Benzolat	
3. Gabe von Progynon B oleosum ^R	
4. Kontrollgruppen	
2.0. Aufarbeitung von Leber und Uterus	
1. Vorbereitung für die DNS-Bestimmung	
2. Homogenatherstellung	
3.0.0. Methodik	7
1.0. Proteinbestimmung	
1. Biuret-Methode	
2.0. DNS-Bestimmung	
1. Indol-Methode	
3.0. Bestimmung der Enzymaktivität	
1. Hyaluronidase	
2. β -Glucuronidase	
3. β -Acetylglucosaminidase	
4.0.0. Ergebnisse	13
1.0. Enzymaktivitäten	
1. Hyaluronidase	

Seite

2. β -Glucuronidase

3. β -Acetylglucosaminidase

2.0. Proteingehalt

3.0. Desoxyribonukleinsäure

5.0.0. Diskussion 30

6.0.0. Zusammenfassung 33

7.0.0. Literaturverzeichnis 34

1.0.0. EINLEITUNG

Die während der Schwangerschaft unter dem hormonellen Einfluß auftretenden Veränderungen des Bindegewebes wurden bisher allgemein mit dem Begriff: "Auflockerung der Gewebe" bezeichnet. Sie können sowohl mit morphologischen als auch biochemischen Methoden näher untersucht werden (24, 59, 60, 65).

Nicht nur Uterus, Vagina und Sexualhaut, sondern auch die Symphyse, die Ileosakralgelenke, das parametrane Bindegewebe, die Darmwand und das Nierenbecken weisen diese Bindegewebsveränderungen während der Schwangerschaft auf (31, 76).

Von den Bestandteilen des Bindegewebes wurden besonders die Mucopolysaccharide näher untersucht. ZACHARIAE (76) fand vier Wochen nach Ovariectomie beim Kaninchen keine Mucopolysaccharide im Endometriumstroma. Untersuchungen mit radioaktiv markiertem $^{35}\text{SO}_4$ (45) ergaben unter Östrogeneinfluß eine gesteigerte Synthese der sauren Mucopolysaccharide im Epithel der Cervix uteri. FRIEDEN und MARTIN (24) wiesen mit radioaktiv markiertem ^{14}C -Glycin unter Östrogeneinfluß eine Steigerung der Proteinsynthese in der Symphyse von Mäusen nach. TALMAGE (65) fand nach Östrogenen in der Symphyse eine Zunahme des Wassergehaltes. WISLOCKI, BUNTING und DEMPSEY (75) zeigten unter Östrogenen eine Erhöhung der Hyaluronsäurekonzentration in der Symphyse.

Diese Befunde lassen deutlich Veränderungen des Interzellularstoffwechsels während der Schwangerschaft erkennen.

PLATT und PLATT (55) führten während der Schwangerschaft beim Menschen Serum-Aktivitätsbestimmungen derjenigen Enzyme durch, die den Abbau der sauren Mucopolysaccharide katalysieren: Hyaluronidase (EC 3.2.1.35), β -Glucuronidase (EC 3.2.1.31) und β -Acetylglucosaminidase (EC 3.2.1.30). Diese Glycosaminoglycano-Hydrolasen zählen zur Gruppe der lysosomalen Enzyme (1, 35, 36, 61, 71, 72, 73). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen ergaben einen signifikanten Enzymaktivitätsanstieg im Serum während der Schwangerschaft und einen signifikanten Aktivitätsabfall der drei Glycosaminoglycano-Hydrolasen im Wochenbett. Als Ursache werden zwei Mechanismen diskutiert:

1. Eine vermehrte Ausschwemmung der drei Enzyme aus der Plazenta.
2. Eine Östrogen-induzierte Freisetzung dieser Enzyme aus den Lysosomen der übrigen Organe.

Aktivitätsmessungen der Glycosaminoglycano-Hydrolasen in menschlichen Plazenten und Eihäuten haben gezeigt, daß diese Organe hohe spezifische Aktivitäten dieser Enzyme aufweisen (53). Wie aus den Untersuchungen von PLATT und HARTMANN (52) hervorgeht, zeigen besonders die dem RES zugehörigen Organe hohe spezifische Aktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen. So könnte der erhöhte Östrogenspiegel während der Schwangerschaft zu einer vermehrten Freisetzung der Hyaluronidase, β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase aus den enzymreichen Organen, besonders der Leber, führen und die Enzymaktivitäten im Serum erhöhen. Die vermehrt in die Interzellulärsubstanz freigesetzten Glycosaminoglycano-Hydrolasen würden eine Depolymerisation der sauren Mucopolysaccharide bewirken und somit zu einer Viskositätsabnahme im Bereich des Geburtskanals führen.

Dieser Frage sollte in tierexperimentellen Untersuchungen durch Gaben von Östrogen nachgegangen werden. Gleichzeitig sollte der Einfluß von Testosteron auf das Aktivitätsverhalten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen untersucht werden.

2.0.0. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Untersucht wurden männliche und weibliche Albino-Ratten. Die Tiere wurden unter konstanten Milieu- und Fütterungsbedingungen gehalten und über mehrere Wochen wöchentlichen Gewichtskontrollen (Abb. 9 ff) unterzogen. Das Körpergewicht schwankte je nach Alter der Tiere und Tiergruppe zwischen 220 und 550 g.

1.0. Gruppeneinteilung und Dosierung (s. Kap. 4.0.0.)

1. Gabe von Testosteron-Propionat

10 männliche Ratten, die vor Versuchsbeginn in Äthernarkose orchidektomiert worden waren, erhielten je 100 γ Testosteron-Propionat (Fa. Schering AG, Berlin) in 0,5 ml Sesamöl (Fa. Schering AG, Berlin) über 6 Tage täglich i.p. Am 7. Tag wurden die Tiere durch Nackenschlag und Entbluten getötet, die Leber entnommen und zur biochemischen Analyse präpariert (s. Kap. 2.2.0. bis 2.2.2.).

2. Gabe von Östradiol-3-Benzoat

9 männliche Ratten, vor Versuchsbeginn in Äthernarkose orchidektomiert, erhielten je 15 γ Östradiol-3-Benzoat (Fa. Schering AG, Berlin) in 0,1 ml Sesamöl über 6 Tage täglich i.p. Die Tiere wurden am 7. Tag durch Nackenschlag und Entbluten getötet, die Leber entnommen und zur biochemischen Analyse präpariert.

3. Gabe von Progynon B oleosum^R

10 weiblichen Ratten wurde an 6 Tagen in der Woche über 3 Wochen je 0,07 ml Progynon B oleosum^R (Fa. Schering AG, Berlin) s.c. injiziert (1 Amp. zu 1 ml enthält 5 mg Östradiolbenzoat in öliger Lösung) (56).

5 weibliche Kontrolltiere erhielten in gleicher Dosierung und über den gleichen Zeitraum Sesamöl s.c. Die Tiere wurden am 22. Tag nach Injektionsbeginn durch Nackenschlag und Entbluten getötet, Leber und Uterus entnommen und für die biochemische Analyse präpariert.

4. Kontrollgruppen

1. 10 männliche, nicht orchidektomierte Ratten.
2. 19 männliche, vor Versuchsbeginn in Äthernarkose orchidektomierte Ratten.
3. 4 weibliche Ratten ohne jegliche Injektion.

2.0. Aufarbeitung von Leber und Uterus

Sofort nach Dekapitieren des Tieres wurde die Leber, bei weiblichen Tieren auch der Uterus (nur bei den im Kap.

2.1.3. angeführten Tieren) entnommen und im Kühlraum bei + 4° C wie folgt präpariert:

1. Vorbereitung zur DNS-Bestimmung

Nach Bestimmung des Organgewichtes wurde 1 g Lebergewebe

abgetrennt und bei + 60° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Dieses Material wurde später mit dem Ultra Turrax (Fa. Janke u. Kunkel, Staufen) feinkörnig zermahlen. Hiervon wurden 50 mg für die DNS-Bestimmung eingesetzt (s. Kap. 3.2.0.). Wegen der geringen Ausgangsmenge an Uterusgewebe war neben den Enzymaktivitätsmessungen eine DNS-Bestimmung nicht möglich.

2. Homogenatherstellung

Nach mechanischer Zerkleinerung der Organe wurde das Gewebe mit der dreifachen Menge an vorgekühlter 0,25 mol Saccharose-Lösung pH 7,2 versetzt und 2 bis 3 Minuten mit einem Potter Elvehjem (Phila., USA) homogenisiert. Der grobe Rückstand wurde nach Filtration durch Mullage verworfen. Das Filtrat wurde dann zweimal 10 Minuten bei 3000 U/min in der Kühlzentrifuge (MSE Highspeed 18, London) zentrifugiert und der Rückstand jeweils verworfen. Der Homogenatüberstand wurde nun einer 15-minütigen Zentrifugation bei 17000 U/min unterzogen. Der Überstand wurde zur Bestimmung der freien lysosomalen Aktivität der Glycosaminoglycano-Hydrolasen eingesetzt. Der Rückstand wurde nach Zugabe von 10 ml 0,1 mol Citrat-Phosphat-Puffer pH 4,5 + 0,1 mol physiol. Kochsalzlösung + 0,1 % Triton x 100 bei - 25° C eingefroren. Nach zwei Einfrier- und Auftauschritten wurde erneut für 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert und der Überstand zur Bestimmung der gebundenen lysosomalen Aktivität eingesetzt.

3.0.0. METHODIK

1.0. Proteinbestimmung

1. Biuret-Methode

Die Proteinbestimmung im Homogenatüberstand wurde mit Hilfe der Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (70) in der Modifikation nach BODE u. Mitarbeitern (6) durchgeführt.

Ausführung: 0,2 ml Proteinlösung, 1,8 ml physiol. NaCl-Lösung und 2,0 ml Biuret-Reagenz (45 g Kaliumnatriumtartrat, 15 g Cu(II)-Sulfat, 5 g Kaliumjodid in 1 Liter carbonatfreier 0,2 n Natronlauge) wurden nach 20-minütigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Die Extinktionsmessung erfolgte bei 546 nm im Photometer 'Eppendorf'. Gleichzeitig wurden ein Reagenzienleerwert (2,0 ml Biuret-Reagenz + 2,0 ml physiol. NaCl-Lösung) und ein Homogenatleerwert (0,2 ml Homogenat + 3,8 ml physiol. NaCl-Lösung) mitbestimmt.

Die Eichkurve wurde an Hand einer Verdünnungsreihe mit dem Kontroll-Serum 'Lab-Trol' (DADE Reagents Inc., Miami, USA) aufgestellt.

Zur Eliminierung störender trübender Substanzen, besonders von Lipidtrübungen, wurden nach Ablesen der Extinktion (E_1) etwa 30 mg KCN in Substanz zugegeben, wonach eine Entfärbung des Biuret-Komplexes eintrat. Danach wurde die Extinktion des farblosen Ansatzes erneut gemessen (E_2). Entsprechend wurde bei den Leerwerten verfahren. Die Berechnung der Proteinkonzentration erfolgte dann nach folgender Gleichung (6):

$$(\Delta E_1^M - \Delta E_2^M) - (\Delta E_1^L - \Delta E_2^L) \times F$$

= mg Protein/ml Homogenatüberstand

M = Meßwert

L = Leerwert

F = Faktor, der von der Verdünnung der Proteinlösung und vom 'Lab-Trol'-Eichwert abhängt.

2.0. DNS-Bestimmung

1. Indol-Methode

Zur quantitativen Bestimmung der Desoxyribonukleinsäure (DNS) im Lebertrockengewebe (s. Kap. 2.2.1.) wurde ihre Farbreaktion mit Indol eingesetzt, welche der Methode nach CERIOTTI (14) und KECK (34) entspricht.

Ausführung: 50 mg Lebertrockengewebe wurden mit 4 ml 0,5 mol Perchlorsäure versetzt und bei 90° C im Wasserbad 30 Minuten hydrolysiert. Nach dreiminütigem Zentrifugieren bei 3000 U/min wurden 3,0 ml des Hydrolysates abgehebert und mit 2,0 ml 0,5 mol Perchlorsäure versetzt. Davon wurden für den Hauptwert 2,0 ml abpipettiert und mit 1,0 ml 0,06 % Indol und 1,0 ml 3 n HCl versetzt. Für den Blindwert wurden 2,0 ml Hydrolysat und 2,0 ml 0,5 mol Perchlorsäure zusammengegeben. Nach 10-minütiger Hydrolyse bei 90° C und anschließendem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde zweimal mit dem gleichen Volumen Essigsäure-iso-amylester kräftig ausgeschüttelt, bis eine feine Dispersion der organischen Phase erreicht war. Nach erfolgter Trennung der beiden Phasen wurde der überstehende, durch unspezifische Zucker, ali-

phatische Aldehyde und Proteinhydrolysate rotgefärbte Essigsäure-iso-amylester abgehebert und verworfen. Nach kurzem Abzentrifugieren in der Tischzentrifuge bei 3000 U/min wurde der entstandene Farbkomplex im Spektralphotometer (Beckmann DB-G) bei 490 nm bestimmt. Außer dem angegebenen Leerwert wurde bei jeder Reihe ein Reagenzienleerwert (2,0 ml Perchlorsäure + 1,0 ml Indollösung + 1,0 ml Salzsäure) mitbestimmt. Die Eichkurve wurde durch Versuchsansätze mit DNS aus Heringssperma (niedermolekular, pract., entfettet; Serva Entwicklungslabor, Heidelberg) gewonnen.

3.0. Bestimmung der Enzymaktivität

1. Hyaluronidase

Wegen der geringen Menge an Ausgangsmaterial wurden zur Hyaluronidaseaktivitätsmessung die einzelnen Proben einer Versuchs- bzw. Kontrollgruppe zusammengegeben und anschließend einer Ammoniumsulfatfällung unterworfen. Die 0 - 35 Gew.-%-Fraktion wurde dann zur Enzymaktivitätsmessung eingesetzt.

Die Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität im Homogenatüberstand erfolgte nach der modifizierten MORGAN-ELSON-Reaktion (44, 58).

Als Substrat diente Kaliumhyaluronat aus Hahnenkämmen (51). Der direkte Nachweis der Hyaluronidase-Aktivität aus dem Homogenatüberstand gelang weder bei der gebundenen noch bei der freien Aktivität. Nach einer Dialyse von 24 Stunden gegen aqua dest. konnte der Nachweis bei der gebundenen Aktivität erbracht werden. Für die freie Aktivität mußte

das dialysierte Homogenat gefriergetrocknet werden. Nach dem Auflösen des Lyophilisates (5 mg in 1,0 ml 0,05 mol Citrat-Phosphat-Puffer pH 4,1) konnte auch hier der Aktivitätsnachweis erbracht werden.

Ausführung: 0,3 ml Homogenat + 0,15 ml einer 0,025 mol Hyaluronat-Lösung wurden jeweils mit einem Tropfen Toluol versetzt und bei 37° C im Wasserbad für 16 Stunden inkubiert. Als Enzymblindwert lief ein Ansatz mit, der an Stelle des Substrates 0,15 ml aqua dest. enthielt. Nach Zugabe von 0,1 ml einer 0,8 mol Kaliumtetraboratlösung pH 9,1 und dreiminütigem Erhitzen bei 100° C erfolgte Abkühlen auf Zimmertemperatur. Nach Zugabe von 3 ml Ehrlichs Reagenz (1 : 10 mit Eisessig verdünnt) und 20-minütigem Inkubieren bei 37° C im Wasserbad wurde der Ansatz 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert und das Sediment verworfen. Die Extinktion des Farbkomplexes wurde im 'Eppendorf'-Photometer bei 546 nm bestimmt. Als Substratblindwert diente der folgende Ansatz: 0,15 ml Substrat + 0,30 ml aqua dest. Die Eichkurve wurde mit einer Konzentrationsreihe von N-Acetyl-Glucosamin aufgestellt.

Durch die Anwesenheit der β -Glucuronidase und der β -Acetylglucosaminidase kommt es zu einem weiteren Abbau der Tetrasaccharide. Daraus resultiert eine größere Zahl von freien N-Acetyl-Glucosamin-Endgruppen, die eine Angabe der Aktivität in Milliunits (mU) nicht gestatten (11).

Die Angabe der Hyaluronidase-Aktivität erfolgte daher in Form der Extinktion bei 546 nm pro mg Protein im Inkubationsmedium und 16 Stunden Inkubationszeit.

2. β -Glucuronidase

Die Bestimmung der β -Glucuronidase-Aktivität im Homogenat-überstand erfolgte im wesentlichen nach der Methode von FISHMAN (23) in der Modifikation nach DOHRMANN (19).

Ausführung: 0,1 ml Homogenat, 0,8 ml 0,1 mol Acetatpuffer pH 5,2 und 0,1 ml einer 0,01 mol Phenolphthalein-mono- β -Glucuronid-Lösung (Sigma Chemicals Co., St.Louis, USA) (64) wurden bei 37° C im Wasserbad für 1 Stunde inkubiert. Danach erfolgte Zugabe von 2,5 ml einer 0,5 mol alkalischen Glycinlösung pH 10,45. Nach dreiminütigem Zentrifugieren bei 3000 U/min - das Sediment wurde verworfen - erfolgte die Extinktionsmessung des Farbkomplexes bei 546 nm im 'Eppendorf'-Photometer.

Der Enzymblindwert enthielt 0,1 ml Homogenat und 0,9 ml Acetatpuffer. Der Substratblindwert enthielt 0,1 ml Substrat und 0,9 ml aqua dest.

Die Eichkurve wurde mit einer Konzentrationsreihe von Phenolphthalein aufgestellt.

3. β -Acetylglucosaminidase

Die Bestimmung der β -Acetylglucosaminidase-Aktivität im Homogenatüberstand erfolgte nach der Methode von PUGH, LEABACK und WALKER (57).

Ausführung: 0,1 ml Homogenat, 0,5 ml 0,1 mol Citrat-Phosphat-Puffer pH 4,4 und 0,4 ml 0,025 mol β -Phenyl-N-Acetyl-D-Glucosaminid-Lösung wurden für 1 Stunde bei 37° C im Was-

serbad inkubiert. Nach der Zugabe von 2 ml Folin-Reagenz (Folin Ciocalteu Reagenz, Merck, Darmstadt, 1 : 3 mit aqua dest. Verdünnt) wird das ausgefällte Protein 5 Minuten lang bei 3000 U/min abzentrifugiert. Vom Überstand wurden 2 ml abpipettiert und mit 3 ml Natriumcarbonat (12 % Na_2CO_3) versetzt. Nach 20-minütigem Inkubieren bei 37° C im Wasserbad erfolgte die Extinktionsmessung des Farbkomplexes bei 650 nm im 'Beckmann'-Photometer.

Dabei enthielten der Enzymblindwert 0,1 ml Homogenat + 0,9 ml Citrat-Phosphat-Puffer und der Substratblindwert 0,1 ml Substrat + 0,9 ml Citrat-Phosphat-Puffer.

Die Eichkurve wurde mit einer Konzentrationsreihe von Phenol durchgeführt.

4.0.0. ERGEBNISSE

Bei der Darstellung der Ergebnisse wurden folgende Versuchsgruppen aufgeführt (s. Kap. 2.1.0. bis 2.1.4.):

- Gruppe A: Lebern von 10 männlichen, nicht orchidektomierten Ratten.
- Gruppe B: Lebern von 19 männlichen, orchidektomierten Ratten.
- Gruppe C: Lebern von 10 männlichen, orchidektomierten Ratten, denen 6 Tage lang täglich je 100 γ Testosteron-Propionat (Fa. Schering AG, Berlin) in 0,5 ml Sesamöl (Fa. Schering AG, Berlin) i.p. injiziert wurden.
- Gruppe D: Lebern von 9 männlichen, orchidektomierten Ratten, denen 6 Tage lang täglich je 15 γ Östradiol-3-Benzoat (Fa. Schering AG, Berlin) in 0,1 ml Sesamöl i.p. injiziert wurden.
- Gruppe E: Lebern von 4 weiblichen Kontrolltieren.
- Gruppe F: Lebern von 5 weiblichen Kontrolltieren, denen 6 Tage in der Woche über 3 Wochen täglich je 0,07 ml Sesamöl allein s.c. injiziert wurden.
- Gruppe G: Lebern von 10 weiblichen Ratten, denen 6 Tage in der Woche über 3 Wochen täglich je 0,07 ml Progynon B oleosum^R (Fa. Schering AG, Berlin) (1 Amp. zu 1 ml enthält 5 mg Östradiolbenzoat in öligiger Lösung) s.c. injiziert wurden (56).
- Gruppe H: Uteri von 5 weiblichen Kontrolltieren, denen 6 Tage in der Woche über 3 Wochen täglich je 0,07 ml Sesamöl allein s.c. injiziert wurden.

Gruppe J: Uteri von 10 weiblichen Ratten, denen 6 Tage in der Woche über 3 Wochen täglich je 0,07 ml Progynon B oleosum^R s.c. injiziert wurden.

Die Werte der berechneten Grundgrößen der einzelnen Versuchsgruppen und die bei den statistischen Berechnungen ermittelten Ergebnisse wurden in einer Tabelle dem betreffenden Abschnitt vorangestellt.

Das gewonnene Zahlenmaterial einer Gruppe wurde mit dem anderer Gruppen verglichen.

Die Größe der Irrtumswahrscheinlichkeit, d.h. eine Aussage darüber, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen zweier Gruppen vorliegt, wurde folgendermaßen bewertet:

$p > 0,05$ nicht signifikant
 $0,025 < p < 0,05$ leicht signifikant
 $0,001 < p < 0,025$ signifikant
 $p < 0,001$ hoch signifikant

1.0. Enzymaktivitäten

1. Hyaluronidase (Abb. 1)

Aus methodischen Gründen konnten, wie aus Kap. 3.3.1. hervorgeht, statistische Berechnungen der Hyaluronidase-Aktivität nicht durchgeführt werden, da von jeder Versuchsgruppe die Einzelproben zusammengegeben wurden und damit nur ein Leber- bzw. Uterus-Wert der Hyaluronidase-Aktivität bestimmt werden konnte.

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß in den folgenden Gruppen:

Lebern von männlichen, nicht orchidektomierten Ratten,

Lebern von männlichen, orchidektomierten Ratten,

Lebern von männlichen, orchidektomierten Ratten:

100 γ Testosteron-Propionat i.p. für 6 Tage;

Lebern von männlichen, orchidektomierten Ratten:

15 γ Östradiol-3-Benzooat i.p. für 6 Tage;

Lebern von weiblichen Kontrolltieren,

Lebern von weiblichen Kontrolltieren:

0,07 ml Sesamöl 6 Tage in der Woche über 3 Wochen s.c.;

Lebern von weiblichen Ratten:

0,07 ml Progynon B oleosum^R 6 Tage in der Woche über 3 Wochen s.c.;

Uteri von weiblichen Ratten:

0,07 ml Sesamöl 6 Tage in der Woche über 3 Wochen s.c.

die Werte der gebundenen Hyaluronidase-Aktivität die der freien Aktivität innerhalb einer Gruppe übersteigen.

2. β -Glucuronidase (Abb. 2, 3)

Enzym	Gruppe	Aktivität	Grundgrößen			Gruppe B		Gruppe F		Gruppe J	
			n	$\bar{x}$	$\pm S$	t-Test t	p	t-Test t	p	t-Test t	p
β -Glucuronidase	A	frei geb.	10 10	3,58 7,56	1,06 6,31	0,32 2,50	< 0,40 < 0,01				
	B	frei geb.	19 19	3,44 13,59	1,17 5,89						
	C	frei geb.	10 10	3,09 9,91	0,63 5,55	1,07 1,67	< 0,15 < 0,10				
	D	frei geb.	10 9	3,08 20,32	0,83 8,35	0,97 2,18	< 0,20 < 0,025				
	E	frei geb.	4 4	2,34 15,56	1,20 4,83			1,21 2,91	< 0,15 < 0,0125		
	F	frei geb.	5 5	3,57 24,70	1,83 4,49						
	G	frei geb.	10 10	4,87 36,83	0,52 3,97			1,35 5,12	< 0,10 < 0,0005	2,66 25,01	< 0,01 < 0,0005
	H	frei geb.	5 5	2,15 12,82	0,95 6,96			1,74 3,20	< 0,10 < 0,01	1,92 3,29	< 0,05 < 0,005
	J	frei geb.	10 10	3,43 2,42	1,63 1,78						

Zusammenstellung der statistischen Daten der freien und gebundenen lysosomalen β -Glucuronidase-Aktivität (m U)

(Bezugsgröße: Protein)
(Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.)

Tab. 1

Vergleich der Gruppen A und B:

Ein Vergleich der freien β -Glucuronidase-Aktivität der Leber zwischen orchidektomierten und nicht orchidektomierten Ratten ergab keinen signifikanten Unterschied, dagegen war die gebundene lysosomale Aktivität in der Gruppe der orchidektomierten Tiere gegenüber den nicht orchidektomierten Tieren mit $p < 0,01$ signifikant erhöht (s. Tab.).

Vergleich der Gruppen B und C:

Beim Vergleich der freien und gebundenen β -Glucuronidase-Aktivität der Leber ergaben sich zwischen den Gruppen der orchidektomierten Tiere und der orchidektomierten, mit Testosteron-Propionat behandelten Tiere keine signifikanten Unterschiede.

Vergleich der Gruppen B und D:

Die freie Aktivität der β -Glucuronidase der Leber zeigte beim Vergleich der orchidektomierten und der orchidektomierten, mit Östradiol-3-Benzoeat behandelten Tiere keine Signifikanzunterschiede. Die letztere Gruppe wies jedoch mit $p < 0,025$ gegenüber den orchidektomierten Tieren eine signifikante Erhöhung der gebundenen lysosomalen Aktivität auf.

Vergleich der Gruppen E und F:

Die freie β -Glucuronidase-Aktivität der Leber zeigte zwischen weiblichen Kontrolltieren und weiblichen, mit Sesamöl be-

handelten Tieren keinen Signifikanzunterschied, dagegen lag die gebundene lysosomale Aktivität der weiblichen Kontrolltiere mit $p < 0,0125$ signifikant niedriger als die der mit Sesamöl injizierten, weiblichen Tiere.

Vergleich der Gruppen F und G:

Die gebundene β -Glucuronidase-Aktivität der Leber der weiblichen, mit Progynon B oleosum^R behandelten Tiere war mit $p < 0,0005$ hoch signifikant gegenüber den mit Sesamöl injizierten, weiblichen Kontrolltieren erhöht. Die freie Aktivität zeigte keine signifikanten Unterschiede.

Vergleich der Gruppen F und H:

Beim Vergleich der freien β -Glucuronidase-Aktivität zwischen Leber und Uterus der weiblichen, mit Sesamöl behandelten Tiere ergab sich kein Signifikanzunterschied, während die gebundene Leber-Aktivität der β -Glucuronidase die gebundene Aktivität des Uterus mit $p < 0,01$ signifikant übertraf.

Vergleich der Gruppen G und J:

Beim Vergleich der freien β -Glucuronidase-Aktivität wies die Leber gegenüber dem Uterus der mit Progynon B oleosum^R behandelten Tiere eine mit $p < 0,01$ signifikante und beim Vergleich der gebundenen lysosomalen Aktivität eine mit $p < 0,0005$ hoch signifikante Zunahme auf.

Vergleich der Gruppen H und J:

Der Vergleich der freien β -Glucuronidase-Aktivität der Uteri zwischen den mit Sesamöl behandelten Kontrolltieren und den mit Progynon B oleosum^R behandelten Ratten ergab eine leicht signifikante ($p < 0,05$) Zunahme der Versuchsgruppe gegenüber den Kontrolltieren, während die gebundene lysosomale Aktivität der Kontrollgruppe die der Versuchsgruppe mit $p < 0,005$ signifikant überstieg.

3. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 4, 5)

Enzym	Gruppe	Aktivität	Grundgrößen			Gruppe B		Gruppe F		Gruppe J	
			n	$\bar{x}$	$\pm S$	t-Test		t-Test		t-Test	
						t	p	t	p	t	p
β -Acetylglucosaminidase	A	frei geb.	10	1,76	0,58	0,89	< 0,20				
			10	85,94	22,18	0,25	< 0,45				
	B	frei geb.	19	1,56	0,60						
			19	83,0	40,95						
	C	frei geb.	10	1,19	0,28	2,24	< 0,025				
			10	80,24	31,44	0,20	< 0,45				
	D	frei geb.	10	2,26	1,38	1,53	< 0,10				
			10	115,67	28,59	2,51	< 0,01				
	E	frei geb.	4	1,25	0,76			0,53	< 0,35		
			4	82,26	29,50			0,29	< 0,40		
	F	frei geb.	5	1,48	0,47						
			5	77,75	11,92						
	G	frei geb.	10	1,51	0,26			0,13	< 0,45	5,25	< 0,0005
			10	112,89	57,27			1,86	< 0,05	1,38	< 0,10
	H	frei geb.	5	2,54	0,70			3,22	< 0,005	2,07	< 0,05
			5	247,78	81,15			3,23	< 0,005	3,50	< 0,0025
	J	frei geb.	10	3,45	0,98						
			10	104,70	59,42						

Zusammenstellung der statistischen Daten der freien und gebundenen β -Acetylglucosaminidase-Aktivität (mU)

(Bezugsgröße: Protein)
(Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.)

Tab. 2

Vergleich der Gruppen A und B:

Der Vergleich der freien und gebundenen Leber-Aktivität zwischen orchidektomierten und nicht orchidektomierten männlichen Tieren ergab keinen signifikanten Unterschied der β -Acetylglucosaminidase (s. Tab.).

Vergleich der Gruppen B und C:

Die freie β -Acetylglucosaminidase-Aktivität der Leber der orchidektomierten, mit Testosteron-Propionat behandelten Tiere zeigte eine signifikante ($p < 0,025$) Abnahme gegenüber den orchidektomierten Kontrolltieren, während die gebundene lysosomale Aktivität beider Gruppen keine Signifikanzunterschiede aufwies.

Vergleich der Gruppen B und D:

Zwischen der freien β -Acetylglucosaminidase-Aktivität der Leber der orchidektomierten Ratten und der orchidektomierten, mit Östradiol-3-Benzooat behandelten Ratten fand sich kein signifikanter Unterschied, jedoch zeigte sich in der zuletzt genannten Gruppe eine mit $p < 0,01$ signifikante Zunahme der gebundenen Aktivität im Vergleich zur Tiergruppe, die orchidektomiert worden war.

Vergleich der Gruppen E und F:

Der Vergleich der freien und gebundenen β -Acetylglucosaminidase-Aktivität der Leber zwischen weiblichen Kontrolltieren und weiblichen, mit Sesamöl behandelten Kontrolltieren erbrachte keine signifikanten Unterschiede.

Vergleich der Gruppen F und G:

Zwischen der freien β -Acetylglucosaminidase-Aktivität der Leber der mit Sesamöl injizierten, weiblichen Kontrolltiere und der mit Progynon B oleosum^R behandelten, weiblichen Tiere bestand kein signifikanter Unterschied; die gebundene β -Acetylglucosaminidase-Aktivität der Leber der mit Progynon B oleosum^R behandelten weiblichen Tiere war mit $p < 0,05$ leicht signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht.

Vergleich der Gruppen F und H:

Sowohl die freie als auch die gebundene β -Acetylglucosaminidase-Aktivität des Uterus der mit Sesamöl injizierten Tiere wiesen eine mit $p < 0,005$ signifikante Erhöhung gegenüber der β -Acetylglucosaminidase-Aktivität der Leber der gleichen Gruppe auf.

Vergleich der Gruppen G und J:

Die freie Aktivität der β -Acetylglucosaminidase des Uterus der mit Progynon B oleosum^R behandelten Tiere erwies sich mit $p < 0,0005$ als hoch signifikant erhöht gegenüber der Aktivität in der Leber der gleichen Gruppe, während beim Vergleich der gebundenen lysosomalen Aktivität kein Signifikanzunterschied zu erkennen war.

Vergleich der Gruppen H und J:

Die freie Aktivität der β -Acetylglucosaminidase im Uterus der mit Progynon B oleosum^R behandelten Ratten zeigte eine

mit $p < 0,05$ leicht signifikante Zunahme gegenüber der Aktivität des Uterus der mit Sesamöl injizierten Kontrolltiere; die gebundene lysosomale Aktivität des Uterus war dagegen in der Versuchsgruppe mit $p < 0,0025$ signifikant gegenüber der mit Progynon B oleosum^R behandelten Gruppe erniedrigt.

2. 0. Proteingehalt (Abb. 6, 7)

Gruppe	Grundgrößen		Gruppe B		Gruppe F		Gruppe J	
	n	$\bar{x}$ $\pm$ S	t-Test t	p	t-Test t	p	t-Test t	p
A	ÜLF	10 21,63 2,98	2,35	< 0,025				
	LF	10 4,13 0,85	3,45	< 0,025				
B	ÜLF	19 18,60 3,83						
	LF	19 5,52 1,31						
C	ÜLF	10 20,27 5,03	0,92	< 0,20				
	LF	10 5,13 0,55	1,12	< 0,15				
D	ÜLF	10 20,82 4,46	1,34	< 0,10				
	LF	10 5,49 1,37	0,06	< 0,49				
E	ÜLF	4 14,50 1,31			3,45	< 0,01		
	LF	4 5,52 1,46			5,85	< 0,0005		
F	ÜLF	5 18,58 2,20						
	LF	5 7,0 0,98						
G	ÜLF	10 18,87 2,05			0,25	< 0,45	20,83	< 0,0005
	LF	10 4,54 0,80			4,84	< 0,0005	17,17	< 0,0005
H	ÜLF	5 1,88 0,42			16,65	< 0,0005	4,30	< 0,0005
	LF	5 0,01 0,005			15,89	< 0,0005	3,45	< 0,0025
J	ÜLF	10 3,56 1,09						
	LF	10 0,14 0,12						

Zusammenstellung der statistischen Daten des Proteingehaltes im Überstand der Lysosomenfraktion (ÜLF) und in der Lysosomenfraktion (LF)
 (Proteinkonzentration in mg/ml Fraktion)
 (Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.)

Tab. 3

Vergleich der Gruppen A und B:

Der Vergleich des Proteingehaltes der Leber im Überstand der Lysosomenfraktion ergab eine mit $p < 0,025$ signifikante Zunahme der nicht orchidektomierten männlichen gegenüber den orchidektomierten Tieren, während der Proteingehalt der Lysosomenfraktion der orchidektomierten Tiere den der nicht orchidektomierten Tiere signifikant ($p < 0,025$) überstieg (s.Tab.).

Vergleich der Gruppen B und C:

Der Proteingehalt der Leber im Überstand der Lysosomenfraktion und in der Lysosomenfraktion wies bei den orchidektomierten und den mit Testosteron-Propionat behandelten, orchidektomierten Tieren keine Signifikanzunterschiede auf.

Vergleich der Gruppen B und D:

Der Vergleich zwischen orchidektomierten und mit Östradiol-3-Benzolat behandelten, orchidektomierten Tieren zeigte weder im Überstand der Lysosomenfraktion noch in der Lysosomenfraktion einen signifikanten Unterschied im Leber-Proteingehalt.

Vergleich der Gruppen E und F:

Im Überstand der Lysosomenfraktion erwies sich der Leber-Proteingehalt der weiblichen Kontrolltiere mit $p < 0,01$ signifikant und in der Lysosomenfraktion mit $p < 0,0005$ hoch signifikant vermindert gegenüber den weiblichen, mit Sesam-

Öl injizierten Tieren.

Vergleich der Gruppen F und G:

Beim Vergleich des Leber-Proteingehaltes zwischen weiblichen, mit Sesamöl behandelten Kontrolltieren und weiblichen, mit Progynon B oleosum^R behandelten Tieren ergab sich im Überstand der Lysosomenfraktion kein signifikanter Unterschied, während in der Lysosomenfraktion die mit Progynon B oleosum^R behandelten Tiere eine mit $p < 0,0005$ hoch signifikante Abnahme des Leber-Proteingehaltes gegenüber der Kontrollgruppe aufwiesen.

Vergleich der Gruppen F und H:

Der Uterus-Proteingehalt der mit Sesamöl injizierten Kontrolltiere erwies sich sowohl im Überstand der Lysosomenfraktion als auch in der Lysosomenfraktion mit jeweils $p < 0,0005$ hoch signifikant vermindert gegenüber dem Leber-Proteingehalt der gleichen Gruppe.

Vergleich der Gruppen G und J:

Auch bei diesem Vergleich war der Proteingehalt des Uterus der mit Sesamöl behandelten Tiere im Überstand der Lysosomenfraktion und in der Lysosomenfraktion mit je $p < 0,0005$ hoch signifikant verringert gegenüber dem Leber-Proteingehalt der mit Progynon B oleosum^R behandelten, weiblichen Tiergruppe.

Vergleich der Gruppen H und J:

Die mit Progynon B oleosum^R behandelten Ratten zeigten im Überstand der Lysosomenfraktion eine mit $p < 0,0005$ hoch signifikante Erhöhung des Uterus-Proteingehaltes gegenüber dem Uterus-Proteingehalt der mit Sesamöl behandelten Kontrollgruppe; in der Lysosomenfraktion übertraf die Versuchsgruppe mit $p < 0,0025$ signifikant die mit Sesamöl behandelte Kontrollgruppe.

3. 0. Desoxyribonukleinsäure-Gehalt (Abb. 8)

Gruppe	Grundgrößen			Gruppe B		Gruppe F	
	n	$\bar{x}$	$\pm S$	t - Test		t - Test	
				t	p	t	p
A	10	98,2	31,4	3,15	< 0,025		
B	18	147,2	52,5				
C	7	177,2	39,3	1,57	< 0,10		
D	10	167,7	33,7	1,27	< 0,15		
E	3	163,4	13,0			1,17	< 0,20
F	5	146,3	27,9				
G	10	119,2	11,1			2,09	< 0,05

Zusammenstellung der statistischen Daten des Leber-DNS-Gehaltes (μ DNS/gFG)
(Gruppenbezeichnung s.Kap. 4.0.0.)

Vergleich der Gruppen A und B:

Der Desoxyribonukleinsäure- (DNS-)Gehalt der orchidektomierten Ratten war in der Leber mit $p < 0,025$ signifikant höher als bei der nicht orchidektomierten Gruppe.

Vergleich der Gruppen B und C:

Beim Vergleich der Leber-DNS-Werte der orchidektomierten mit den orchidektomierten, mit Testosteron-Propionat behandelten Tieren ergab sich kein Signifikanzunterschied.

Vergleich der Gruppen B und D:

Beim Vergleich der Leber-DNS-Werte zwischen orchidektomierten und orchidektomierten, mit Östradiol-3-Benzoeat behandelten Ratten war kein signifikanter Unterschied zu erkennen.

Vergleich der Gruppen E und F:

Zwischen weiblichen Kontrolltieren und weiblichen, mit Sesamöl injizierten Kontrolltieren bestand kein Signifikanzunterschied im Leber-DNS-Gehalt.

Vergleich der Gruppen F und G:

Die weibliche, mit Progynon B oleosum^R behandelte Versuchsgruppe zeigte eine mit $p < 0,05$ leicht signifikante Abnahme ihres Leber-DNS-Gehaltes im Vergleich zur weiblichen, mit Sesamöl behandelten Kontrollgruppe.

5.0.0. DISKUSSION

Die während der Schwangerschaft feststellbaren Vorgänge im Bereich des Genitaltrakts veranlassten zahlreiche Untersuchungen zu chemischen und morphologischen Studien nach Gaben von Östrogen bzw. Progesteron im Tierexperiment. So konnten BOSTRÖM und ODEBLAD (9) sowie ZACHARIAE (77) mit $^{35}\text{SO}_4$ autoradiographisch nachweisen, daß die Inkorporationsrate in das Endometriumstroma von Ratte, Kaninchen und Meerschweinchen nach Gabe von Östrogen gesteigert ist. MONTFORT und PEREZ-TAMAYO (43) zeigten, daß der Hexosamingehalt des Rattenuterus bis zum Ende der Schwangerschaft um das Zehnfache ansteigt. Papierelektrophoretisch wurden Hyaluronsäure und Chondroitinsulfat nachgewiesen. HERINGA und DE JONGH (28) sowie BURROWS (13) fanden nach Gabe von Östrogen ödematöse Veränderungen und das Auftreten metachromatischer interfibrillärer Substanzen im Vas deferens der kastrierten männlichen Maus. Die Abnahme der Konzentration an Glycosaminoglycanen, die Zunahme des Wassergehaltes sowie gesteigerte Inkorporationsraten von $^{35}\text{SO}_4$ weisen auf eine Östrogen-bedingte Stoffwechseländerung der Interzellularsubstanz der "target"-Organe hin.

PLATT und PLATT (55) konnten nachweisen, daß die Serum-Aktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen im Verlauf der Schwangerschaft signifikant ansteigen. Gelangen diese lysosomalen Enzyme in den Interzellularraum der Organe, so können sie durch Depolymerisierung des Mucopolysaccharidanteils der Mucopolysaccharidproteinkomplexe zu einer Störung der Makromolekularstruktur führen. Mit der Depolymerisierung langkettiger Moleküle kommt es einmal zur Freisetzung intramolekular gelegenen Wassers, zum anderen - durch das Auftreten kleinerer Moleküle - zu einem Anstieg

des osmotischen Druckes im Gewebe. Beide Vorgänge geben eine Erklärung für die Wasserzunahme in den Geweben, vor allem im Bereich des Geburtskanals. Mit der Depolymerisierung nimmt verständlicherweise die Viskosität ab, so daß es im Bereich der Geburtswege zu einer besseren Dehnungsbereitschaft kommt. Als Ausgangspunkt für die gesteigerten Serumaktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen wurden einmal die Plazenta mit Eihäuten nachgewiesen (PLATT und PLATT), zum anderen jedoch eine Östrogen-bedingte Freisetzung der Glycosaminoglycano-Hydrolasen aus anderen Organen diskutiert. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß es nach Gabe von Östradiol-Benzoeat im Tierexperiment zu einer signifikanten Aktivitätssteigerung der Glycosaminoglycano-Hydrolasen kommt, die nicht nur auf das "target"-Organ beschränkt ist, sondern auch in der Leber nachgewiesen werden kann. Eine statistische Auswertung der Hyaluronidase-Aktivitäten war aus methodischen Gründen nicht möglich. Interessant ist darüber hinaus, daß auch orchidektomierte männliche Ratten nach Gaben von Östradiol-Benzoeat eine signifikante Aktivitätssteigerung der Glycosaminoglycano-Hydrolasen in der Leber erkennen lassen. Die Aktivitätssteigerungen betreffen jedoch in erster Linie den intralysosomalen Anteil der Enzyme. Eine exakte Aussage über das Aktivitätsverhalten des freien Enzymanteils ist bei einer Proteinkonzentrationszunahme im Lysosomensedimentüberstand nur mit Einschränkung möglich. Die signifikante Aktivitätssteigerung des freien Anteils der β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase im Uterus würde für eine Labilisierung der Lysosomenmembran sprechen - ein Befund, der die Untersuchungen von WEISSMAN (73) bestätigt. Ein Vergleich des freien Anteils der β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase-Aktivität in Leber und Uterus nach Östradiol-Benzoeat-Gabe zeigt, daß es sowohl eine unterschiedliche Beeinflussbarkeit

der Organe als auch der Enzyme gibt. Von ausschlaggebender Bedeutung für den katabolen Mucopolysaccharidstoffwechsel ist allein die Enzymmenge, die nach dem Austritt aus den Lysosomen in den Extrazellularraum gelangt und die hier liegenden Substrate abbaut. So kann bei konstanter Gesamtaktivität (intra- und extralysosomale Aktivität) dann ein gesteigerter Abbau stattfinden, wenn der freie, wirksame Anteil erhöht ist. Zum anderen ist bei einer gesteigerten Gesamtaktivität eine unveränderte Abbaurate zu erwarten, wenn die freie Enzymmenge konstant bleibt.

Die Aktivitätsmessungen der Glycosaminoglycano-Hydrolasen in der Leber männlicher orchidektomierter Ratten nach Gabe von Testosteron, die eine signifikante Abnahme des freien Anteils der β -Acetylglucosaminidase-Aktivität erkennen lassen, könnten für eine Stabilisierung der Lysosomenmembran durch Testosteron sprechen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß ein erhöhter Östrogen-Spiegel zu einer Zunahme der spezifischen Aktivität der am Abbau der Mucopolysaccharide beteiligten Enzyme führt. Diese Aktivitätssteigerung, die in Leber und Uterus nachgewiesen wurde, gibt eine zusätzliche Erklärung für die von PLATT und PLATT gefundenen Serumaktivitätssteigerungen im Verlauf der Schwangerschaft. Für den Geburtsablauf sind durch den Enzymaktivitätsanstieg der Glycosaminoglycano-Hydrolasen in der Schwangerschaft über einen vermehrten Mucopolysaccharidabbau optimale Bedingungen geschaffen.

6.0.0. ZUSAMMENFASSUNG

In tierexperimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß es nach Gabe von Östradiol-Benzoeat und Testosteron bei männlichen und weiblichen Ratten zu signifikanten Aktivitätsänderungen der am Abbau der Mucopolysaccharide beteiligten Enzyme: β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase kommt. So nimmt nach Östrogengaben die gebundene lysosomale Aktivität beider Enzyme in der Leber von weiblichen und orchidektomierten männlichen Ratten signifikant zu, nach Gabe von Testosteron findet man eine Aktivitätsabnahme des freien Anteils der β -Acetylglucosaminidase.

Im Uterus zeigt der freie Anteil der β -Glucuronidase nach Östrogen-Gabe eine signifikante Aktivitätszunahme, während die β -Acetylglucosaminidase-Aktivität im Lysosomensediment signifikant abfällt. Die Bedeutung der Aktivitätsänderungen für den Geburtsablauf werden diskutiert.

7.0.0. LITERATURVERZEICHNIS

1. ARONSON, N.N. and E.A. DAVIDSON:
Lysosomal hyaluronidase.
J. biol. Chem. 240: PC 3222-3224 (1965).
2. ASBOE-HANSEN, G.:
Hormonal effects on connective tissue.
In transaction of the fifths conference.
Josiah Macy Jr. Found. (N.Y.) p. 123 (1954).
3. ASBOE-HANSEN, G.:
The hormonal control of connective tissue.
Intern. Rev. Connective Tissue, Vol. 1,
Academic Press, Inc. (N.Y.) p. 29 (1963).
4. ASTWOOD, E.B.: Changes in the weight and water content
of the uterus of the normal adult rat.
Amer. J. Physiol. 126: 162 (1939).
5. BENSLEY, S.H.: On the presence, proporties and distribu-
tion of the intercellular ground substance
of loose connective tissue.
Anat. Rec. 60: 93 (1934)
6. BODE, CH., H. GOEBELL und E. STÄHLER:
Zur Eliminierung von Trübungsfehlern bei
der Eiweißbestimmung mit der Biuretmethode.
Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 5: 418
(1968).
7. BOLLET, A.J., W.M. BONNER and J.L. NANCE:
The presence of hyaluronidase in various
mammalian tissues.
J. biol. Chem. 238: 3522-3527 (1963).

8. BOSTRÖM, H.: Einige Aspekte zum Metabolismus der Mucopolysaccharide.
In W.H. HAUSS u. H. LOSSE: "Struktur und Stoffwechsel des Bindegewebes". pp. 20-33, Stuttgart (1960).
9. BOSTRÖM, H. and E. ODEBLAD:
Acta Endocrinol. 10: 89 (1952).
10. BUDDECKE, E. und O. HEIFELE:
Reinigung und Eigenschaften der β -Glucuronidase aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 347:
173-191 (1966).
11. BUDDECKE, E. und D. PLATT:
Nachweis, Reinigung und Eigenschaften der Hyaluronidase aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 343:
61-78 (1965).
12. BUDDECKE, E. und E. WERRIES:
Reinigung und Eigenschaften der β -Acetylglucosaminidase aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 340:
257-272 (1965).
13. BURROWS, H.: Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B. 118: 485 (1935).
14. CERIOTTI, G.: A microchemical determination of desoxyribonucleic acid.
J. biol. Chem. 198: 297-303 (1952).

15. CHAIN, E. and E.S. DUTHIE:
 Identity of hyaluronidase and spreading
 factor.
 Brit. J. exp. Path. 21: 324 (1940).

16. DE DUVE, C., B.C. PRESSMAN, R. GIANETTO, R. WATTIAUX
 and F. APPELMANS:
 Tissue fractionation studies, intracel-
 lular distribution patterns of enzymes in
 the rat liver tissue.
 Biochem. J. 60: 604-617 (1955).

17. DISCHE, Z.: Biochem. Z. 204: 431 (1929).

18. DISCHE, Z.: Mikrochemie 8: 4 (1930).

19. DOHRMAN, R.: Zur klinischen Bestimmung und Kinetik der
 β -Glucuronidase.
 Dtsch. Arch. Klin. Med. 206: 322-333
 (1960).

20. DORFMAN, A.: Metabolism of acid mucopolysaccharides.
 Biophys., J., Suppl. to vol. 4: 155-165
 (1964).

21. DURAN-REYNALS, F.:
 Introduction: The ground substance of the
 mesenchyme and hyaluronidase.
 Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 946 (1950).

22. DZIEWIATKOWSKI, D.D.:
 Effect of hormones on the turnover of
 polysaccharides in connective tissue.
 Biophys. J. 4: 215 (1964).

23. FISHMAN, W.H.: β -Glucuronidase.
in Sumner, Myrbäck: "The Enzymes", Vol. 4,
642-649.
New York: Acad. Press (1950).
24. FRIEDEN, E.H. and A.S. MARTIN:
Uptake of glycine- 1-C^{14} by connective
tissue.
I. Effects of estrogen and relaxin.
J. biol. Chem. 207: 133 (1954).
25. GIBIAN, H.: Mucopolysaccharide und Mucopolysacchari-
dasen.
Wien (1950).
26. HALL, K.: An evaluation of the roles of estrogen,
progesteron and relaxin in producing re-
laxation of the symphysis pubis of the
ovariectomized mouse, using the technique
of metachromatic staining with toluidin
blue.
Endocrinol. 13: 384 (1956).
27. HAMILTON, T.H.: Sequences of RNA and protein synthesis
during early estrogen action.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 51: 83
(1964).
28. HERINGA, G.C. and S.E. DE JONGH:
Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat. 21: 629
(1934).

29. HVIDBERG, E. and C.E. JENSEN:

Changes in molecular weight of acid MPS
in connective tissue due to hormone
treatment, dehydration and age.
Acta chem. scand. 13: 2047 (1959).

30. IVERSON, O.H.: Mast cells in the myometrium of the human
cervix uteri and changes caused by andro-
genic and estrogenic hormones.
Acts path. microbiol. scand. 49: 337
(1960).

31. JENSEN, E.V., T. SUZUKI, T. KAWASHIMA, W.E. STUMPF,
P.W. JUNGBLUT and E.R. DE SOMBRE:

A two-step mechanism for the interaction
of estradiol with rat uterus.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 59: 632
(1968).

32. JERVELL, L.F., C.R. DINIZ and G.C. MUELLER:

Early effects of estradiol on nucleic
acid metabolism in rat uterus.
J. biol. Chem. 231: 954 (1958).

33. JOHANSSON, H. and B. WESTIN:

The influence of testosterone and estradiol
on the occurrence of mast cells in the
mouse uterus.
Acta path. microbiol. scand. 40: 413
(1957).

34. KECK, K.:

An ultramicro technique for the determi-
nation of desoxypentose nucleic acid.
Arch. Biochem. Biophys. 63: 446-451
(1956).

35. KEWITZ, H.: Variation der Enzymausstattung der Zelle durch Pharmaka.
Internist. 8, 391-400 (1966).
36. KRISCH, K.: Übersichten: Lysosomen
Dtsch. med. Wschr. 91: 1274-1280 (1967).
37. KRÜSKEMPER, H.L., J. PETZOLD und R. ULBRICHT:
Der Einfluß von Testosteron und anabolen Steroiden auf Störungen der reaktiven Bindegewebsbildung durch Schilddrüsenhormone und Glucocorticoide.
Zschr. f. Rheumaforsch. Band 25, Heft 9/10, p. 305.
38. LOEWIE, G. and R. CONSDEN:
Acid mucopolysaccharides of the human uterus.
Nature, Lond. 195: 148 (1962).
39. LORENZEN, I. and V. HEADINGS:
Vascular connective tissue under the influence of estrogens.
I. Biochemical and morphological studies of aortae of untreated female and male rabbits, and aortae of castrated and shamoperated female rabbits.
Acta Endocrinol. 52: 565-572 (1966).
40. LORENZEN, I. and V. HEADINGS:
Vascular connective tissue under the influence of estrogens.
II. Reaction of the aortic wall to noradrenalin-induced injury in female and male rabbits.
Acta Endocrinol. 53: 619-626 (1966).

41. MC KERNS, K.W. and P.H. BELL:
The mechanism of action of estrogenic hormones on metabolism.
Rec. Progr. Hormone Res. 16: 97 (1960).
42. MEYER, K.: Biological significance of hyaluronic acid and hyaluronidase.
Physiol. Rev. 27: 335 (1947).
43. MONTFORT, I. and R. PEREZ-TAMAYO:
Lab. Invest. 10: 1240 (1961).
44. MORGAN, W.T.J. and L.A. ELSON:
Biochem. J. 28: 988 (1934).
45. MORICORD: In: Hormones and Connective Tissue, edit. G. ASBOE-HANSEN, Munksgaard, p. 274 (1966).
46. MOSES, L. and H.R. CATCHPOLE:
Determination of water soluble, mucoprotein fractions in normal and estrogen stimulated tissues.
Fed. Proc. 14: 104 (1955).
47. MUELLER, G.C., J. GORSKI and Y. AIZAGA:
The role of protein synthesis in early estrogen action.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 47: 164 (1961).
48. MUELLER, G.C., A.M. HERRANEN and K.F. JERVELL:
Studies on the mechanism of action of estrogen.
Recent Progr. Hormone Res. 14: 95 (1958).

49. NEUBERT, D.: Beeinflussung des Nukleinsäure- und Proteinstoffwechsels durch Pharmaka.
Internist 8: 435 (1966).
50. PLATT, D.: Glycosaminoglycano-Hydrolasen im menschlichen Serum.
Blut 15: 274 (1967).
51. PLATT, D. und M. DORN:
Glycosaminoglycano-Hydrolasen im menschlichen Rippen- und Kniegelenksknorpel.
Dissertation, Giessen (1968).
52. PLATT, D. und R. HARTMANN:
Hyaluronidase, β -Glucuronidase, β -Acetylglucosaminidase in epithelialen und mesenchymalen Geweben des Menschen.
Klin. Wschr. 45: 998-1004 (1967).
53. PLATT, D. und M. PLATT:
Glycosaminoglycano-Hydrolasen in menschlichen Plazenten, Eihäuten und Nabelschnüren.
(im Druck).
54. PLATT, D. und M. PLATT:
Hyaluronidase-, β -Glucuronidase- und β -Acetylglucosaminidase-Aktivität im menschlichen Serum während der Schwangerschaft.
Klin. Wschr. 46: 768 (1968).
55. PLATT, D. und M. PLATT:
Untersuchungen zum Interzellulärstoffwechsel während der Schwangerschaft.
Gynaecologia 168: 219 (1969).

56. PRIEST, R.E. and R.M. KOPLITZ:
Inhibition of synthesis of sulfated mucopolysaccharides by estradiol.
J. exp. Med. 116: 565 (1962).
57. PUGH, D., D.H. LEABACK and P.G. WALKER:
Studies on glucosaminidase. N-acetyl- β -glucosaminidase in rat kidney.
Biochem. J. 65: 464 (1957).
58. REISSIG, J.L., J.L. STROMINGER and L.F. LELOIR:
A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars.
J. biol. Chem. 217: 959-966 (1955).
59. RIENITS, K.G.: Hydration and dehydration of circumgenital skin.
(Thesis, University of Birmingham 1953)
cit. ZUCKERMANN.
60. ROGERS, J.: The structure and function of hyaluronidase.
The Biochemistry of Mucopolysaccharides of Connective Tissue.
Biochemical Society Symposia, Cambridge, University Press, p. 51 (1961).
61. ROHR, H.-P.: Die funktionelle Bedeutung der Lysosomen unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.
Schweiz. Med. Wschr. 96: 1712 (1966).
62. SCHIFF, M.: The influence of estrogens on connective tissue.
In: Hormones and Connective Tissue.
edit. G. ASBOE-HANSEN, Munksgaard, p.274 (1966).

63. SNELL, R.S. and T. NICOL:

Effect of testosterone and androsteron on
the activity of the r.e.s.
Nature (Lond.) 178: 1405 (1956).

64. TALALAY, P. and W.H. FISHMAN:

Chromogenic substrates.
II. Phenolphthalein glucuronic acid as
substrate for the assay of glucuronidase
activity.
J. biol. Chem. 166: 757-762 (1946).

65. TALMAGE, R.V.: The role of estrogen in the estrogen-
relaxin relationship in symphyseal relaxa-
tion.

Endocrinol. 47: 75 (1950).

66. UI, H. and G.C. MUELLER:

The role of RNA synthesis in early estro-
gen action.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 50: 256
(1963).

67. VERITY, M.A., R. CAPER and W.J. BROWN:

Effect of cations on structure-linked
sedimentability of lysosomal hydrolases.
Biochem. J. 109: 149 (1968).

68. VILLEE, C.A.: Interrelations between enzymes and hormo-
nes.

edit. D.M. GREENBERG and H. HARPER.
Enzymes in Health and Disease.
Thomas, Springfield, p. 79, III (1960).

69. VILLEE, C.A., P.B. JOEL, J.M. LORING and J.M. SPENCER:
Stimulation of ATP production and protein
synthesis by estrogens.
Fed. proc. 19: 53 (1960 a).
70. WEICHSELBAUM, T.E.:
Amer. J. clin. Path. 10: 49 (1946).
71. WEISSMANN, G.: Labilization and stabilization of lyso-
somes.
Fed. proc. 23: 1038-1044 (1964).
72. WEISSMANN, G.: Structure and function of lysosomes.
Rheumatology, Basel, vol. 1, pp. 1-28.
(Karger, Basel/New York) (1967).
73. WEISSMANN, G.: Lysosomes
New England J. Med. 273: 1143 (1965).
74. WERRIES, E.: Darstellung und Eigenschaften von B-N-
Acetyl-D-hexosaminidase.
Dissertation, Tübingen (1965).
75. WISKOCKI, G.B., H. BUNTING and E.W. DEMPSEY:
Metachromasia in mammalian tissues and
its relationship to mucopolysaccharides.
Amer. J. Anat. 81: 1 (1947).
76. ZACHARIAE, F.: Studies on the mechanism of ovulation.
Permeability of the blood-liquor barrier.
Acta Endocrinol. 27: 339 (1958).
77. ZACHARIAE, F.: Acta Endocrinol. 29: 118 (1958).

78. ZUCKERMANN, S., A. PALMER and G. BOURNIE:

Changes in water content of organs and
tissues as a result of stimulation by
estradiol.

Nature (Lond.) 143: 521 (1939).

Gruppe	A		B		C		D		E		F		G		H		J	
Aktivität	frei	geb.	frei	geb.	frei	geb.	frei	geb.	frei	geb.	frei	geb.	frei	geb.	frei	geb.	frei	geb.
E ₅₄₆ nm/mg Prot./16 Std. Jnk. - Zeit	0,067	1,026	0,002	1,470	0,040	1,421	0,043	1,494	0,107	1,237	0,097	2,579	0,120	1,557	0,027	0,357	1,863	0,035

Hyaluronidase-Aktivität (E₅₄₆ nm/mg Protein/16 Stunden Inkubationszeit) in Leber und Uterus von männlichen und weiblichen Ratten, gemessen in einer 0-35 Gew.-% Ammoniumsulfat-Fällung.
(Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.)

Abb. 1

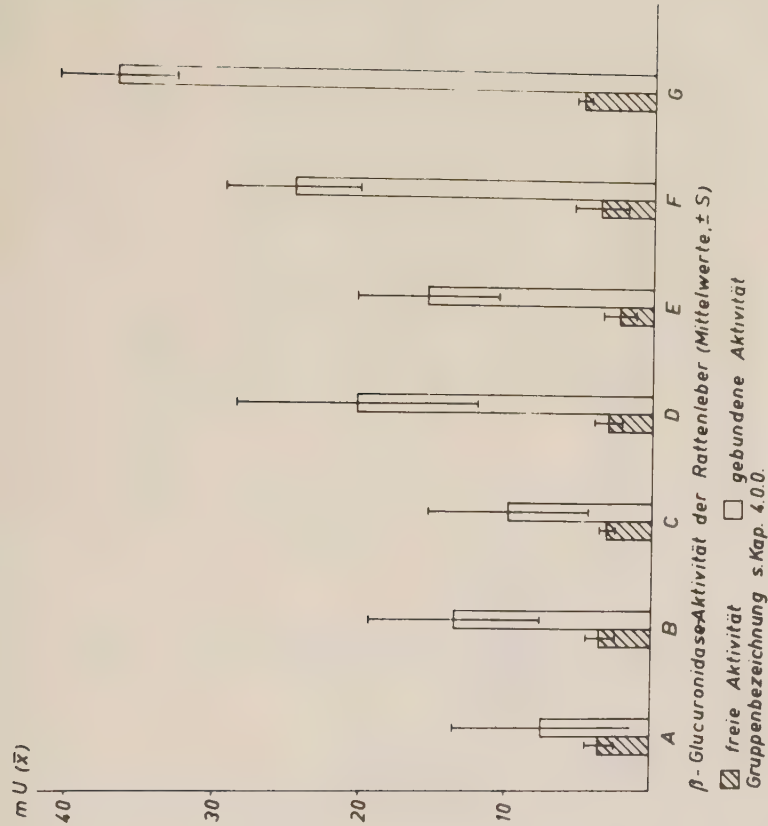


Abb. 2

Substratkonzentration (Phenolphthalein- β -Glucuronid): 0,01 Mol
 Enzymkonzentration (Hämogenatüberstand, Proteingehalt 14,5-23 mg/ml im Überstand der Lysosomenfraktion und 4-7 mg/ml in der Lysosomenfraktion): 0,10 ml
 Inkubationszeit: 2 Stunden
 Inkubationstemperatur: 37 °C
 Angabe der Aktivität: μ Mol freigesetztes Phenolphthalein/min/mg Protein (mU)

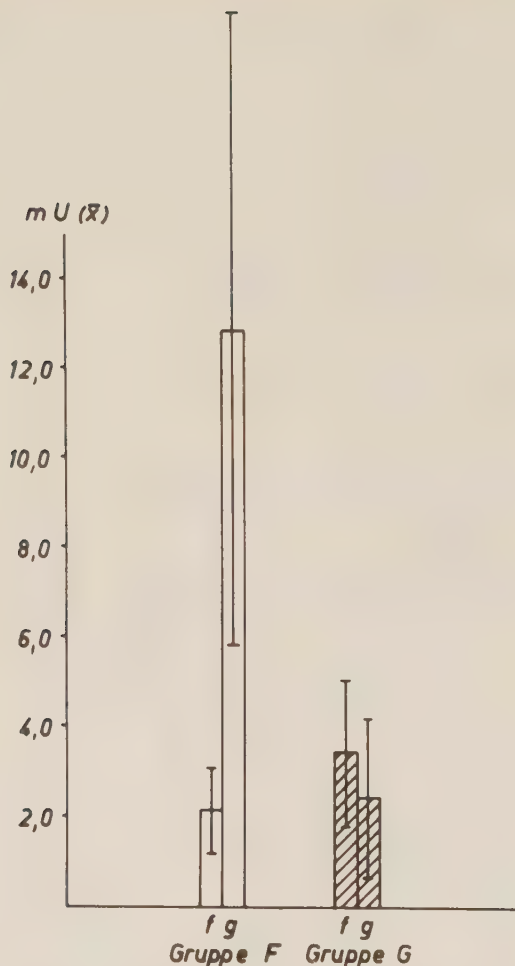


Abb. 3 β -Glucuronidase-Aktivität des Ratten-uterus (Mittelwerte, $\pm S$)

f: freie Aktivität g: gebundene Aktivität

Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.

Substratkonzentration (Phenolphthalein- β -Glucuronid) : 0,01 Mol

Enzymkonzentration (Homogenatüberstand: Proteingehalt: 1,66-3,56 mg/ml im Überstand der Lysosomenfraktion und 0,01-0,144 mg/ml in der Lysosomenfraktion) : 0,10 ml

Inkubationszeit : 4 Stunden

Inkubationstemperatur : 37° C

Angabe der Aktivität : μ Mol freigesetztes Phenolphthalein/min/mg Protein (m U).

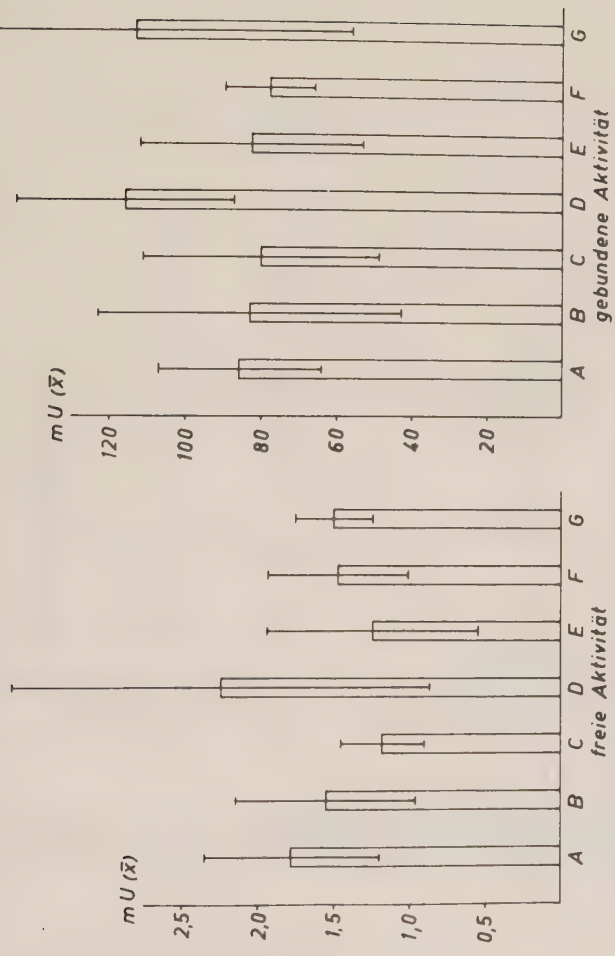
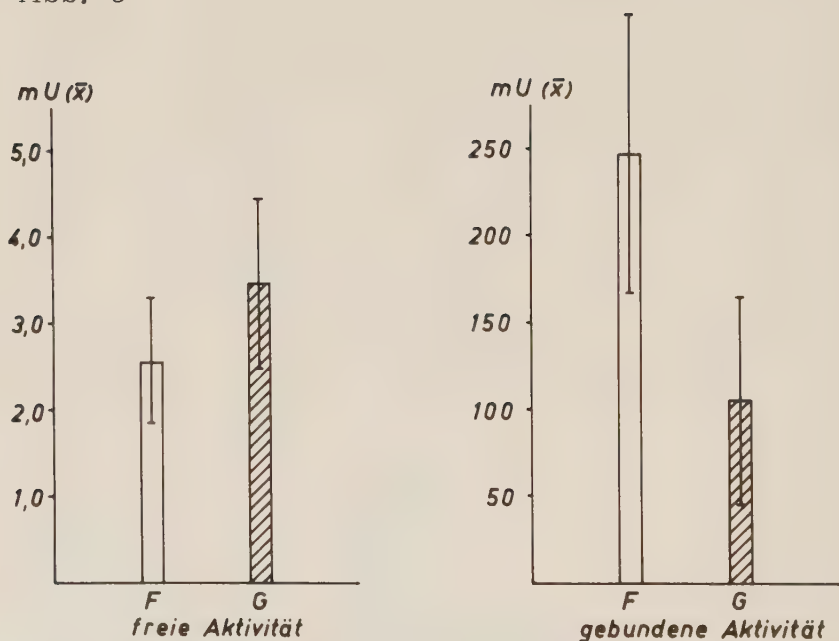


Abb. 4

β -Acetylglucosaminidase - Aktivität der Rattenleber (Mittelwerte, $\pm S$)
 Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.

Substratkonzentration (β -Phenyl-N-Acetyl-D-Glucosaminid) : 0,025 Mol
 Enzymkonzentration (Homogenatüberstand, Proteingehalt 14,5 - 23 mg/ml im Überstand der Lysosomenfraktion und 4 - 7 mg/ml in der Lysosomenfraktion) : 0,10 ml
 Inkubationszeit : 1 Stunde
 Inkubationstemperatur : 37° C
 Angabe der Aktivität : μ Mol freigesetztes Phenol/min/mg Protein (mU)

Abb. 5



β -Acetylglucosaminidase-Aktivität des Rattenuterus
(Mittelwerte, $\pm S$)

Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.

Substratkonzentration (β -Phenyl-N-Acetyl-D-Glucosaminid): 0,025 Mol
Enzymkonzentration (Homogenatüberstand: Proteingehalt 1,88 - 3,56 mg/ml im Überstand der Lysosomenfraktion und 0,01 - 0,144 mg/ml in der Lysosomenfraktion): 0,10 ml
Inkubationszeit: 2 Stunden
Inkubationstemperatur: 37°C

Angabe der Aktivität: μ Mol freigesetztes Phenol / min / mg Protein (mU)

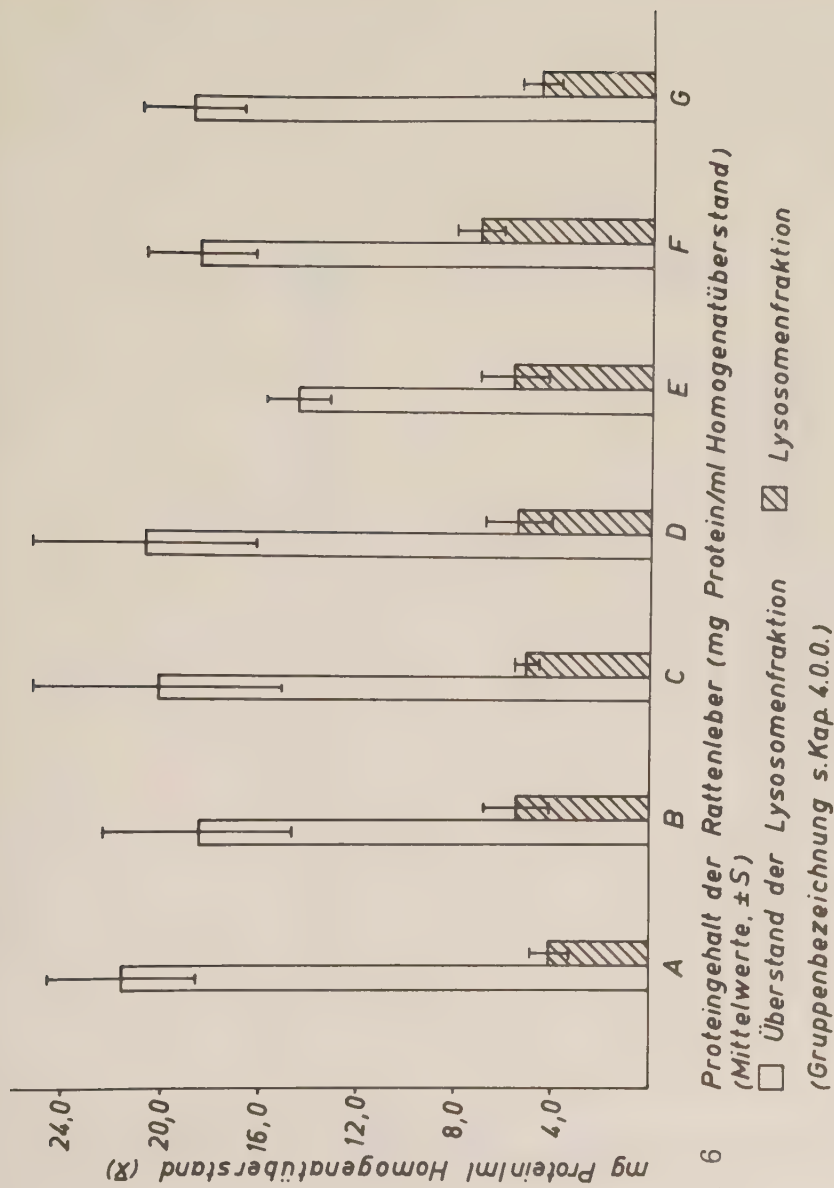
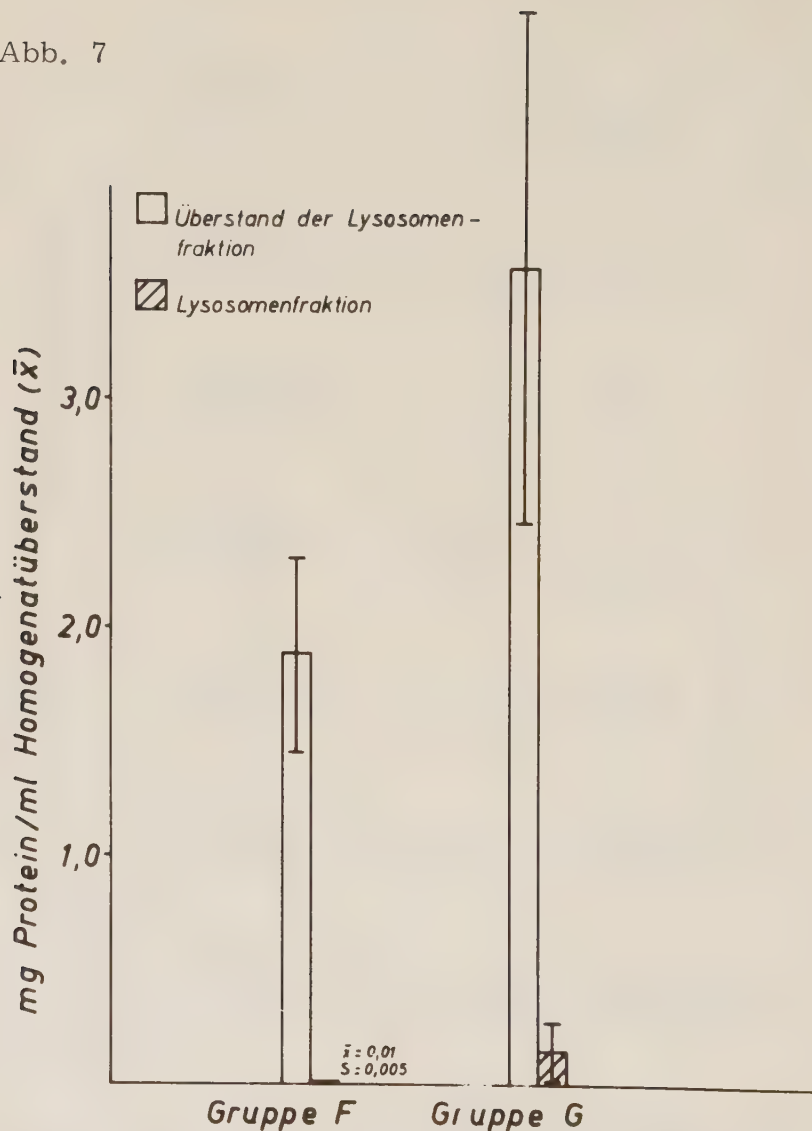


Abb. 6

Abb. 7



Proteingehalt des Rattenuterus (mg Protein/ml Homogenatüberstand) (Mittelwerte, $\pm S$)

(Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.)

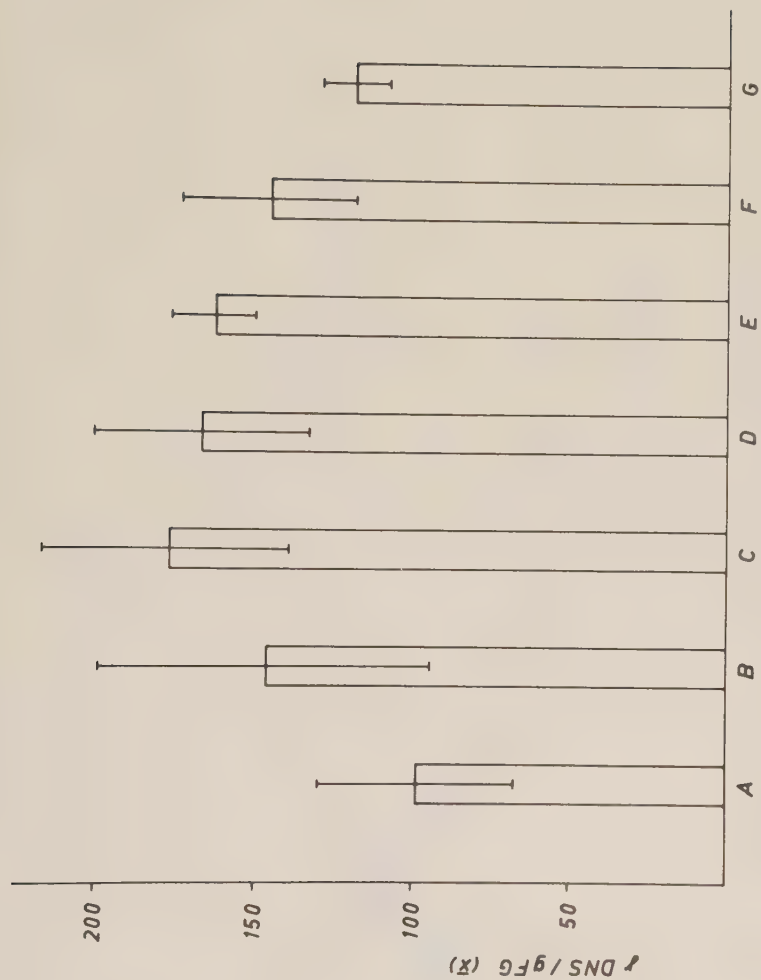


Abb. 8 DNS-Gehalt der Rattenleber (μ DNS / g FG) (Mittelwerte, $\pm S$)
Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.00.

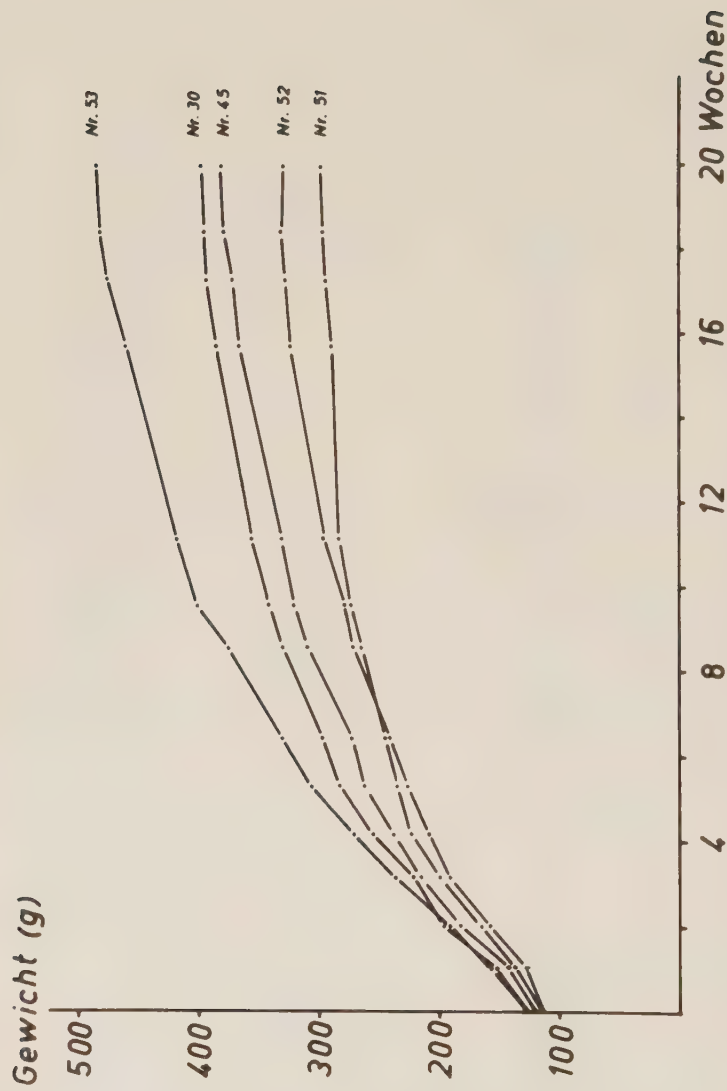
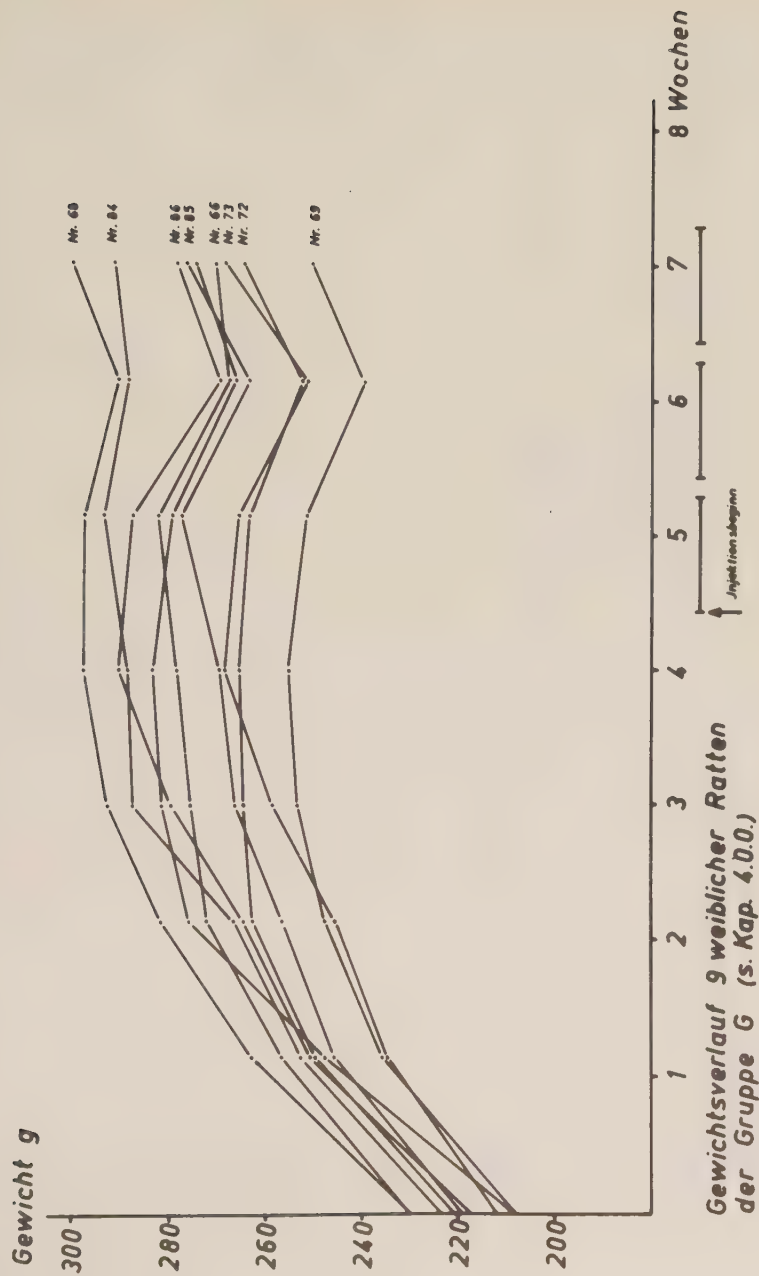
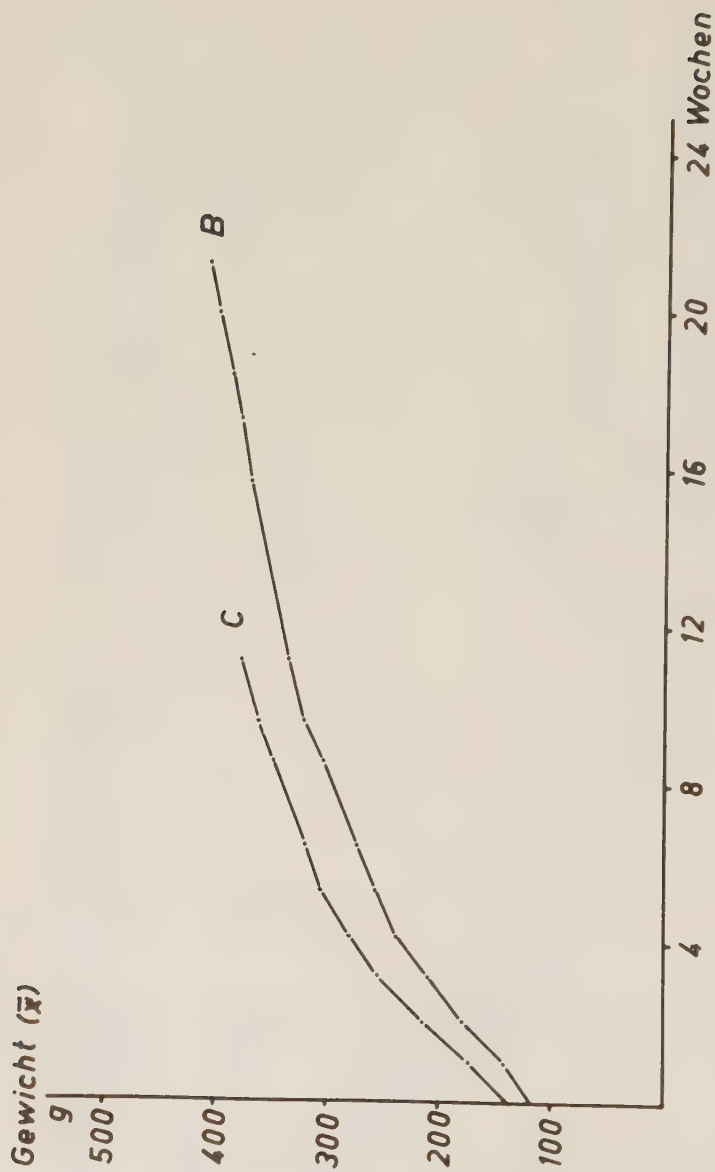


Abb. 9

Gewichtverlauf 5 männlicher orchidektomierter Ratten
(s. Kap. 4.0.0.)

Abb. 10





Injektionsbeginn

100 μ Testosteron Propional/0,5 ml Sesamöl i.p. über 6 Tage

Abb. 11 Vergleich des Gewichtsverlaufes zwischen Gruppe B und C (Mittelwerte) Gruppenbezeichnung s.Kap.4.00.

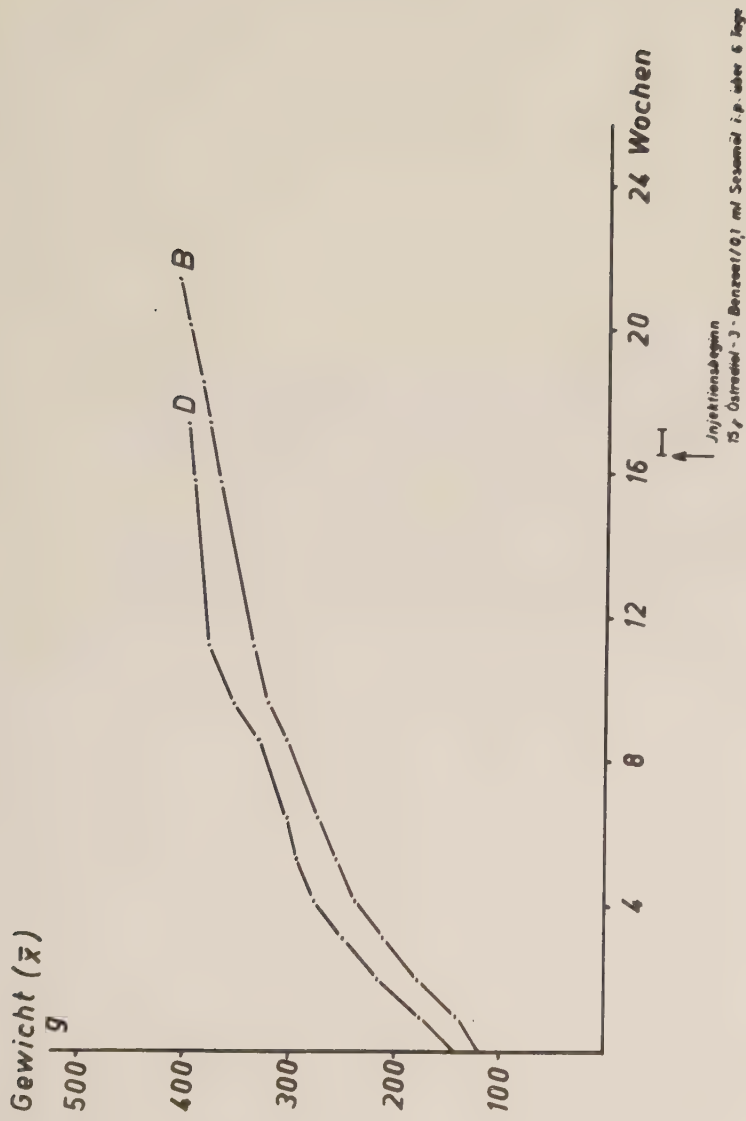


Abb. 12 Vergleich des Gewichtsverlaufes zwischen Gruppe B und D (Mittelwerte)
Gruppenbezeichnung s. Kap. 4.0.0.

Herrn Prof. Dr. H.G. L a s c h danke ich, daß ich die Möglichkeit hatte, in seiner Abteilung der Medizinischen Universitätskliniken in Gießen zu arbeiten.

Herrn Priv. Doz. Dr. D. P l a t t gebührt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die Anregungen und die großzügige Hilfe bei der Anfertigung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 14. Juli 1938 wurde ich als Sohn des Dr. med. Albert Glaum und seiner Ehefrau Dora Luise, geb. Velten, in Gießen geboren.

Meine Einschulung in die Volksschule Lang-Göns, Kreis Gießen erfolgte 1944. Von 1949 bis 1959 besuchte ich das Landgraf Ludwigs-Gymnasium zu Gießen, wo ich die Reifeprüfung bestand.

Im Anschluß daran absolvierte ich den einjährigen Grundwehrdienst beim 2. Fernmeldebataillon in Gießen.

Mein Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1960 an der Justus Liebig-Universität zu Gießen, dort unterzog ich mich am 16. Oktober 1961 der naturwissenschaftlichen Vorprüfung und bestand am 21. April 1964 die ärztliche Vorprüfung. Im Juli 1967 legte ich das Staatsexamen ab. Nach meiner zweijährigen Ausbildung als Medizinalassistent in den Chirurgischen, Medizinischen und Gynaekologischen Universitätskliniken zu Gießen und nach der Ableistung der vorgeschriebenen Vorbereitungszeit zur Kassenarzt-niederlassung möchte ich die Allgemeinpraxis meines verstorbenen Vaters in Lang-Göns übernehmen und weiterführen.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/ Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449